

31.10.03

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

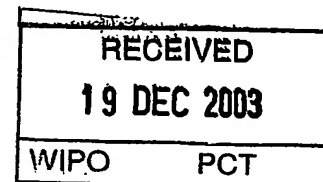
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2002年10月31日

出願番号
Application Number: 特願2002-318173
[ST. 10/C]: [JP2002-318173]

出願人
Applicant(s): 松下電器産業株式会社

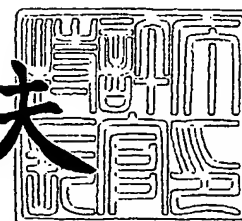


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年12月 4日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願
【整理番号】 2892040202
【提出日】 平成14年10月31日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 G01N 27/26

【発明者】

【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

【氏名】 徳永 博之

【発明者】

【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

【氏名】 内山 素記

【発明者】

【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

【氏名】 山西 永吏子

【発明者】

【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会社内

【氏名】 宮▲崎▼ 正次

【特許出願人】

【識別番号】 000005821

【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100097445

【弁理士】

【氏名又は名称】 岩橋 文雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100103355

【弁理士】

【氏名又は名称】 坂口 智康

【選任した代理人】

【識別番号】 100109667

【弁理士】

【氏名又は名称】 内藤 浩樹

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011305

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9809938

【書類名】 明細書

【発明の名称】 標準液及び定量方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 測定電極と対電極とを含む電極部と、当該電極部に供給される試料液と反応する試薬層とを有するバイオセンサ、及び当該電極部の各電極に電圧を印加するための接続端子と駆動電源とを有する測定装置を用い、前記駆動電源によって、前記バイオセンサの電極部に電圧を印加し、前記反応を電気化学的に測定することにより当該試料液中に含まれる基質を定量するに際し、前記測定装置の校正に用いる標準液であって、前記標準液中に還元性の物質を配合したことを特徴とする標準液。

【請求項 2】 前記駆動電源により、第 1 の電位と、これより小さな第 2 の電位とを印加したとき、第 1 の電位の印加においては、試料液と明確に異なる酸化電流波形を示し、前記第 2 の電位の印加においては、前記試料液と類似した酸化電流波形を示すように処方したことを特徴とする請求項 1 に記載の標準液。

【請求項 3】 前記第 2 の電位の印加により流れる酸化電流よりも、第 1 の電位の印加により流れる酸化電流の方が大きくなるような還元性物質を配合したことを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の標準液。

【請求項 4】 還元性物質が、 $Ag/AgCl$ に対して $0.1\text{ V} \sim 1.0\text{ V}$ の電位で酸化されることを特徴とする請求項 1 から 3 に記載の標準液。

【請求項 5】 前記還元性物質が尿酸、ビリルビン、アスコルビン酸、メチレンブルー、 $Bis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methane$ 、 $N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic\ acid$ 、アセトアミノフェンの少なくとも一つであることを特徴とする請求項 1 から 4 に記載の標準液。

【請求項 6】 対電極と測定電極とを含む電極部と、当該電極部に供給される試料液と反応する試薬層とを有するバイオセンサ、及び当該電極部の各電極に電圧を印加するための接続端子と駆動電源とを有する測定装置とを用い、前記駆動電源によって、前記バイオセンサの電極部に第 1 の電位を第 1 の期間印加した後、

前記電位の印加を待機し、前記待機期間の経過後、前記電極部に前記第 1 の電位より小さい第 2 の電位を第 2 の期間印加して得られる電流値に基づき試料液中に含まれる基質を定量する方法において、前記測定装置の校正に用いる標準液として還元性の物質を配合した標準液を用い、第 1 の期間と第 2 の期間における第 1 と第 2 の電流値から、バイオセンサに供給される検体の液種が試料液であるか標準液であるかを判別するようにした定量方法。

【請求項 7】第 1 の電位の印加においては、試料液と明確に異なる酸化電流波形を示し、前記第 2 の電位の印加においては、前記試料液と類似した酸化電流波形を示すように処方した標準液を用いて、液種を判別することを特徴とする請求項 6 に記載の定量方法。

【請求項 8】前記駆動電源による第 2 の電位の印加により流れる酸化電流よりも、第 1 の電位の印加により流れる酸化電流の方が大きくなるような還元性物質を配合した標準液を用いることによって、検体の液種を判別するようにした請求項 7 に記載の定量方法。

【請求項 9】前記第 1 と第 2 の電流値の比を用いることにより液種を判別することを特徴とする請求項 6 から 8 に記載の定量方法。

【請求項 10】前記第 1 の電流値及び前記第 2 の電流値に基づき、判別に用いるパラメータを算出し、パラメータを独立変数とする判別関数を定義し、前記判別関数に、前記判別パラメータの値を代入して得られる数値を判別指標とし、前記判別指標に基づいて、液種を判別することを特徴とする請求項 6 から 9 に記載の定量方法。

【請求項 11】 $Ag/AgCl$ に対して $0.1\text{ v} \sim 1.0\text{ v}$ の電位で酸化される還元性物質を配合した標準液を用いることによって試料液か標準液であるかを判別するようにした請求項 6 から 10 に記載の定量方法。

【請求項 12】前記還元性物質が尿酸、ビリルビン、アスコルビン酸、メチレンブルー、 $Bis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methane$ 、 $N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic\ acid$ 、アセトアミノフェンの少なくとも一つであることを特徴とする標準液を用いること

によって試料液が標準液であるかを判別するようにした請求項6から11に記載の定量方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオセンサと、このバイオセンサ用の測定装置を用いて、特に血液などの体液に含まれるグルコース、コレステロールなどの濃度を、電気化学的に測定することにより定量し、さらには検体が試料液であるのか、それとも測定装置の校正用の標準液であるのかを自動的に判別する定量方法において、特に、測定誤差による検体種の判別ミスを低減させるための新規な定量方法及びそれに用いる標準液を提供するものである。

【0002】

【従来の技術】

バイオセンサとは、微生物、酵素、抗体、DNA、RNA等の生物材料の分子認識能を利用し、生物材料を分子識別素子として応用した、検体中の基質含有量の定量をするセンサである。即ち、生物材料が目的の基質を認識したときに起こる反応、例えば微生物の呼吸による酸素の消費、酵素反応、発光等を利用して、検体中に含まれる基質を定量するのである。そして各種バイオセンサの中でも酵素センサの実用化は進んでおり、例えば、グルコース、乳酸、コレステロール、アミノ酸用のバイオセンサである酵素センサは医療計測や食品工業に利用されている。この酵素センサは、例えば検体である血液などの試料液に含まれる基質と酵素などとの反応により生成する電子によって電子伝達体を還元し、測定装置がその電子伝達体の還元量を電気化学的に計測することにより、検体の定量分析を行うようになっている。

【0003】

このようなバイオセンサについて様々な形態のものが提案されている。従来のバイオセンサであるバイオセンサについて説明する。図1(a)はバイオセンサの分解斜視図であり、図1(b)はバイオセンサの上面から見た電極部の構成を示す図である。1はポリエチレンテレフタレート等からなる絶縁性の基板（以下

、単に「基板」とする。)であって、基板1の表面には、例えば金やパラジウムなどの貴金属やカーボン等の電気伝導性物質からなる導体層が、スクリーン印刷法やスパッタリング蒸着法によって形成されている。導体層は基板1全面または少なくとも一部に形成されていればよい。8は中央部に空気孔9が設けられた絶縁性の基板であって、切欠部7を有するスペーサ6を基板1との間に挟み込んで、基板1と一体に配置される。

【0004】

基板1上には、複数のスリットによって導体層が分割されて対電極3、測定電極2及び検知電極4が形成されている。さらには、対電極3上に形成された略円弧状のスリット13、14が形成されている。なお、各電極は基板1の少なくとも一部に形成されていればよく、また、測定装置16と各電極との接続はリード線であってもよい。

【0005】

スペーサ6は基板1上の対電極3、測定電極2および検知電極4を覆うように配置され、スペーサ6の前縁部中央に設けられた長方形の切欠部7によって検体供給路7aが形成される。また、15aは検体供給路の入口であり、入口15aに点着された血液等の試料液は、毛細管現象によって略水平方向に空気孔9に向かって吸引される。

【0006】

5はスペーサ6の切欠部7から露出している対電極3、測定電極2および検知電極4に、酵素、電子受容体および親水性高分子等を含有する試薬を塗布することで形成された試薬層5である。試薬層5の形成時、その拡がりは円弧状のスリット13、14により規制される。

【0007】

ここで、酵素としては、グルコースオキシターゼ、ラクテートオキシターゼ、コレステロールオキシターゼ、コレステロールエステラーゼ、ウリカーゼ、アスコルビン酸オキシターゼ、ビリルビンオキシターゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロゲナーゼなどを用いることができる。

【0008】

電子受容体としては、フェリシアン化カリウムが好ましいが、フェリシアン化カリウム以外にも p-ベンゾキノン及びその誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン及びその誘導体などを用いることができる。

【0009】

このようなバイオセンサシステムの場合、人体の血液中のグルコース濃度を測定するため、試薬層 5 に担持されている酸化還元酵素としてグルコースデヒドロゲナーゼが、電子受容体としてフェリシアン化カリウムが用いられる。

【0010】

ここで、このバイオセンサシステムは、とりわけ、試料液として人体の血液、また、基質として、血液に含まれるグルコース、乳酸、コレステロールの含有量を定量することに適している。人体の体液中に含まれる基質の定量は、特定の生理的異常の診断や治療において非常に重要である。特に、糖尿病患者にとって、血液中のグルコース濃度を頻繁に把握する必要がある。

【0011】

なお、以下の説明では、人体の血液に含まれるグルコースの定量に関して開示をするが、適切な酵素を選択することによって、乳酸、コレステロールその他基質を定量することも可能である。

【0012】

この酸化還元酵素と電子受容体が検体供給路に吸引された、人体から摂取された血液に溶解し、試料液中の基質であるグルコースとの間で酵素反応が進行し電子受容体が還元されてフェロシアン化物（フェロシアン化カリウム）が生成される。反応終了後、この還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、このとき得られる電流値から血液中のグルコース濃度が測定される。このような一連の反応は、主に、検体供給路 7a で進行し、対電 3、測定電極 2 及び検知電極 4 によって電気化学的变化に伴う電流値が読み取られることになる。

【0013】

このように構成されたバイオセンサにおける基質の定量方法について図 3 を参照しつつ説明する。図 3 は、バイオセンサ 15、バイオセンサ 15 を着脱自在に

装着する測定装置 16 を有している。バイオセンサ 15 の先端に位置する検体点着部 15 a に点着された検体中に含まれる基質の量が測定装置 16 によって定量されるようになっている。測定装置 16 は、バイオセンサ 15 を着脱自在に装着する挿入部 17、基質の定量結果を表示する表示部 18 を有している。

【0014】

本バイオセンサシステムを用いて、グルコースなどの基質の含有量を定量するには、まず、ユーザはバイオセンサ 15 を測定装置 16 に挿入後、後述するバイオセンサ 15 の電極に測定装置 16 によって一定電圧が印加された状態で、血液を検体点着部 15 a に供給する。点着された血液がバイオセンサ 15 の内部に吸引されて試薬層の溶解が始まる。測定装置 16 は、バイオセンサ 15 の電極間に生じる電気的変化を検知して定量動作を開始するようになっている。

【0015】

そして定量方法としては、バイオセンサを測定装置に挿入し、その測定装置により対電極 3、測定電極 2 間に一定電圧を印加しつつ、前記酵素反応層に試薬液が滴下されたことを検知後一旦電圧の印加を止め、一定時間後に再度定電圧を印加し流れる電流を測定し血糖値を算出することができる（例えば特許文献 1 参照）。

【0016】

以上のようなバイオセンサシステムにおいては、近年、要求されるスペックとして、測定時間の短縮化が望まれている。バイオセンサによって高速に基質の定量を行う場合、血液の粘性がその測定精度に大きな影響を及ぼすため、高精度に測定を行う定量方法として、測定装置により対電極 3、測定電極 2 間に第 1 の電位を、第 1 の期間印加した後、電位を印加することを待機時間の間停止し、待機時間経過後に、測定装置により対電極 3、測定電極 2 間に第 1 の電位よりも小さな第 2 の電位を第 2 の期間印加させて出力される電流を測定する基質の定量方法も開示されている（例えば特許文献 2 参照）。

【0017】

また、例えば血糖値を定量する小型簡易血糖値測定システムなどにおいては、昨今、多種多様の機能を備えた商品が展開されており、例えば、該血糖値測定シ

システムにおいては、最近、とくに測定データの管理や加工などといったデータマネージメントの分野に重点がおかれている。

【0018】

そして一般に、センサ及び測定機器からなるバイオセンサシステムにおいては、その測定精度を維持、管理するため、定期的にたとえば専用の標準液を用いて、測定精度の管理が行われている。なお、従来の標準液としては、水と、所定量のグルコースと、キタンサンと、反応速度調節剤としてのホスフェートを含むものがある（例えば、特許文献3参照）。また他には、グルコース測定に用いるための、所定量のグルコースと、水と、粘度鉱物と、緩衝材と、防腐剤と、界面活性剤と、着色または色形成化合物との混合物を含む無血清対照試薬が開示されている（例えば、特許文献4参照）。

【0019】

そして、標準液を用いて測定精度の管理をおこなうようにした従来のバイオセンサシステムでは、標準液の測定データが通常のサンプルとして用いられる体液等の試料液の測定データと混同して処理されないようにするために、該バイオセンサシステムに標準液を導入する際に、事前に装置上で所定の手動操作を行って標準液の測定モードに切り替えることにより、試料液の測定データと識別するといった対応がなされている。

【0020】

近年、自動的に検体液種を判別する手段として、測定した電流値と該電流値の時間微分値との比をサンプルの判別のパラメータとし、対象とする複数のサンプルの種類を弁別するための、前記弁別パラメータを独立変数とする弁別関数を定義し、前記弁別関数に前記弁別パラメータの値を代入して得られる数値を弁別指標とし、前記弁別指標に基づいて、サンプルの種類を弁別することを特徴とするサンプルの弁別方法などが開示されている（例えば、特許文献5参照）。

【0021】

【特許文献1】

特開平3-287064号公報（第2項）

【特許文献2】

WO02/44705A1 (第21項)

【特許文献3】

WO93/21928-A (第1項)

【特許文献4】

WO95/13536-A (第1項から第8項)

【特許文献5】

WO01/40787A1 (第1項)

【0022】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、自動的に検体種を判別するシステムは、以下に示す様々な要因により、高精度に判別することができず、そのため、実用化されていないという現状があった。

【0023】

第1に、試料液として用いられる血液の構成成分の個人差である。血液の粘性に影響を及ぼすヘマトクリット値は、ユーザーによって様々であり、図2(a)に示すように電流波形は、様々な形状を示す。また、測定値に影響を及ぼす様々な妨害物質と呼ばれる物質、例えばアスコルビン酸、尿酸、ビリルビンなどもユーザー毎に異なるため、それらの妨害物質を含んだ血液を測定した際に得られる電流波形は、図2(b)に示すように様々な形状を示し、標準液の波形との高精度な判別が困難であった。

【0024】

第2に、血糖測定システムをユーザーが使用する環境条件が広範囲(例えば10℃から40℃)であり、環境温度により、試料溶液に含まれる基質と、反応試薬層との溶解性、反応速度が変化するため、血液を測定した際に得られる電流波形は、図2(c)に示すように様々な形状を示し、標準液の波形との高精度な判別が困難であった。

【0025】

このように従来の標準液では、得られる電流波形が血液のものと極めて類似していたために、測定装置自身で自動判別を行うようにすることは誤判別を招きや

すく、このため従来の測定装置では、上述したように手動操作により測定モードを切り換えるように構成せざるを得なかった。

【0026】

そこで、本発明の目的は、高精度で、検体液種の判別が可能なバイオセンサ用の標準液、及びバイオセンサを用いた定量方法を提供することとする。

【0027】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、本発明は次の点に鑑み、標準液の組成を改善することで測定装置での検体液種の自動判別を可能とした。すなわち、本発明者等は、標準液を用いての校正は、図2で説明した測定ポイントt3の電流値にのみ基づき校正を行っていることに着目した。そして測定ポイントt3の電流値を変えることなく、t0からt1の間の電流波形を、標準液に還元性物質を添加することで変化させ、血液検体との判別を容易にするようにしたのである。

【0028】

具体的には、本発明の標準液は、測定電極と対電極を含む電極部と、当該電極部に供給される試料液と反応する試薬層とを有するバイオセンサ、及び当該電極部の各電極に電圧を印加するための接続端子と駆動電源とを有する測定装置を用い、前記駆動電源によって、前記バイオセンサの電極部に電圧を印加し、前記反応を電気化学的に測定することにより当該試料液中に含まれる基質を定量するに際し、前記測定装置の校正に用いる標準液であって、前記標準液中に還元性の物質を配合した標準液を用いる。

【0029】

また、前記駆動電源により、第1の電位と、これより小さな第2の電位とを印加したとき、第1の電位の印加においては、試料液と明確に異なる酸化電流波形を示し、前記第2の電位の印加においては、前記試料液と類似した酸化電流波形を示すように処方した標準液とするとよい。

【0030】

また、前記第2の電位の印加により流れる酸化電流よりも、第1の電位の印加により流れる酸化電流の方が大きくなるような還元性物質を配合した標準液とす

るとよい。

【0031】

また還元性物質が、 Ag/AgCl に対して $0.1\text{ v} \sim 1.0\text{ v}$ の電位で酸化されるものであるとしてよい。

【0032】

また還元性物質が尿酸、ビリルビン、アスコルビン酸、メチレンブルー、 $\text{Bis}(2\text{-hydroxyethyl})\text{iminotris}(\text{hydroxymethyl})\text{methane}$ 、 $\text{N,N-Bis}(2\text{-hydroxyethyl})\text{-2-aminoethanesulfonic acid}$ 、アセトアミノフェンの少なくとも一つであるとしてもよい。

【0033】

さらに、本発明の定量方法は、測定電極と対電極とを含む電極部と、当該電極部に供給される試料液と反応する試薬層とを有するバイオセンサ、及び当該電極部の各電極に電圧を印加するための接続端子と駆動電源とを有する測定装置とを用い、前記駆動電源によって、前記バイオセンサの電極部に第1の電位を第1の期間印加した後、前記電位の印加を待機し、前記待機期間の経過後、前記電極部に前記第1の電位より小さい第2の電位を第2の期間印加して得られる電流値に基づき試料液中に含まれる基質を定量する方法において、前記測定装置の校正に用いる標準液として還元性の物質を配合した標準液を用い、第1の期間と第2の期間における第1と第2の電流値から、バイオセンサに供給される検体の液種が試料液であるか標準液であるかを判別するようにした定量方法である。

【0034】

また、第1の電位の印加においては、試料液と明確に異なる酸化電流波形を示し、前記第2の電位の印加においては、前記試料液と類似した酸化電流波形を示すように処方した標準液を用いて、液種を判別する定量方法としてもよい。

【0035】

また、前記駆動電源による第2の電位の印加により流れる酸化電流よりも、第1の電位の印加により流れる酸化電流の方が大きくなるような還元性物質を配合した標準液を用いることによって、検体の液種を判別する定量方法としてもよい。

【0036】

また、前記第1と第2の電流値の比を用いることにより液種を判別する定量方法としてもよい。

【0037】

また、前記第1の電流値及び前記第2の電流値に基づき、判別に用いるパラメータを算出し、パラメータを独立変数とする判別関数を定義し、前記判別関数に、前記判別パラメータの値を代入して得られる数値を判別指標とし、前記判別指標に基づいて、液種を判別する定量方法としてもよい。

【0038】

また、 $Ag/AgCl$ に対して0.1V～1.0Vの電位で酸化される還元性物質を配合した標準液を用いることによって試料液が標準液であることを判別する定量方法としてもよい。

【0039】

また、前記還元性物質が尿酸、ビリルビン、アスコルビン酸、メチレンブルー、Bis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methane、N, N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid、アセトアミノフェンの少なくとも一つであることを特徴とする標準液を用いることによって試料液が標準液であることを判別する定量方法としてもよい。

【0040】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の一実施の形態について図面を参照しながら詳細に説明する。本発明の実施の形態に用いるバイオセンサ及び測定装置は、従来のバイオセンサ、及び測定装置とほぼ同様に作製されたものが用いられる。異なる点は、測定装置の校正に用いる標準液の中に、還元性物質を配合したことと、この標準液から得られる電流波形をもとに、測定装置で検体が試料液なのかそれとも標準液なのか、液種の自動判別を行うようにしたことである。

【0041】

ここで、本発明の測定装置に用いた測定プロファイルを説明する。図4におけるプロファイルにおいて、時刻 t_0 において本予備処理が開始される。具体的には、測定装置16のタイマ（図示せず）によって時間のカウントが開始された時刻を示す。本予備処理のプロファイルには三つの連続期間からなる。

【0042】

ここでは、時刻 t_0 から t_1 の6秒間の第1電位期間に第1の電位として0.5Vを印加し、時刻 t_1 から t_2 の6秒間の待機期間は印加を行わず、時刻 t_2 から t_3 の3秒間の第2電位期間に第2電位として0.2Vを前記測定電極と、前記対電極間に印加した。印加電位、及び印加時間は使用する電極素材や、試薬層の条件により任意に設定する必要がある。

【0043】

ここで本発明の標準液の組成について、従来の標準液の組成と比較しながら説明する。

【0044】

（従来の標準液組成）

グルコース測定に用いるための、所定量のグルコースとして低濃度40mg/dL、中濃度120mg/dL、高濃度350mg/dLの3つのタイプを準備する。緩衝剤としてリン酸水素2ナトリウムを65mMとリン酸2水素ナトリウム35mMでpH7.0に調整した緩衝液に、所定量のグルコースと、粘度鉱物として水溶性高分子のキタンサンガムを0.1wt%、防腐剤としてSUPELCO社製のProClinを0.05wt%、着色剤として赤色4号を0.04wt%配合し作製した。

【0045】

（本発明の標準液組成）

上記従来の標準液から、緩衝剤のリン酸水素2ナトリウムとリン酸水素2ナトリウムを除き、還元性物質としてBis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methane、（以下単に、Bis-Trisとする。）を50mM添加した。さらに、塩酸を添加してpH7.0に調整した。その他は、全て従来までの標準液と同様に、粘度鉱物、防腐剤

、着色剤を配合して作製した。

【0046】

つまり、本発明の標準液においては、還元性物質として配合したB i s - T r i s に、塩酸を加えてp H 7. 0 に調整されて緩衝剤として作用するため、リン酸緩衝剤を添加する必要がない。

【0047】

ここで以上のような組成で作製した本発明の標準液と、これを用いた定量方法の具体的な効果を説明する。還元性物質を溶解した水溶液をバイオセンサ15の先端に位置する検体点着部15aに点着し、前記測定電極と、前記対電極間に印加電位を0Vから0.7Vまでスイープさせる。ここでは一方向に電位をスイープさせる。この場合、計測された電流は、図5の様に酸化電流－電位曲線挙動を示す。

【0048】

酸化電流－電位曲線挙動は、測定に用いる電極による影響、還元性物質の種類による影響、溶液の粘度による影響、環境温度による影響、水溶液のpHによる影響など様々な影響により異なる曲線挙動を示すが、前記第2の電位により生じる酸化電流*i*2が、前記第1の電位により生じる酸化電流*i*1に比べて小さい酸化電流を生じさせる第1、及び第2の電位の組み合わせを設定してやればよい。*i*1は*i*2に比べて1μA以上大きいのが適当であり、より好ましくは5μA大きければより精度の高い効果がえられる。

【0049】

このような酸化電流－電位曲線挙動に基づけば、図6に示す様に、標準液に含まれる還元性物質から発生する酸化電流が、第1の電位を印加する期間には大きく流れる。つまり標準液中に含まれるグルコースと酵素反応により発生した酸化電流にプラスされて、従来の標準液では識別困難であった血液検体を測定した際に流れる酸化電流よりも大きな酸化電流が検出されることとなる。還元性物質から発生する酸化電流量は、還元性物質の配合濃度に比例するため、必要な酸化電流量にあった還元性物質を任意に配合してやればよい。

【0050】

また、図6の様に、第2の電位を印加する期間には、標準液に含まれる還元性物質から発生する酸化電流が、少ないために、標準液中に含まれるグルコースと酵素反応により発生した酸化電流のみが検出されて、従来の標準液同様に、血液検体と非常に似た判別困難な酸化電流が発生する。

【0051】

これまで述べてきた還元性物質とは、前記バイオセンサシステムにおいて、前記測定電極と、前記対極間に第1の電位を印加した場合に、酸化電流を流し、かつ、第1の電位より小さい第2の電位を印加した場合には、第1の電位を印加したときに流れる酸化電流よりも小さな酸化電流を流す物質であれば同様の効果がえられる。

【0052】

また、バイオセンサの切欠部内に Ag/AgCl を参照極として設置し、設置した Ag/AgCl に対して測定電極の電位が $0.1\text{V} \sim 1.0\text{V}$ の電位のとき、酸化電流を生じる還元性物質であれば同様の効果が得られる。

【0053】

ここでは、 Bis-Tris を 50mM 配合した場合について述べたが、配合濃度は、 $1\text{mM} \sim 200\text{mM}$ が適当であり、より好ましくは、 $10\text{mM} \sim 100\text{mM}$ である。容易に溶解できる Bis-tris 量であれば、同様の効果が得られる。

【0054】

配合する還元性物質は、尿酸、ビリルビン、アスコルビン酸、メチレンブルー、アセトアミノフェンのいずれか一つであっても同様の効果が期待できる。

【0055】

さらに、グッドの緩衝剤である、 $\text{N,N-Bis}(2\text{-hydroxyethyl})\text{-2-aminoethanesulfonic acid}$ (以下単に、 BES とする。)、 ADA 、 MOPS 、 MOPSO 、 TAPSO 、 TES 、 ACES などのいずれか一つの緩衝剤であっても同様に効果が確認された。

【0056】

本発明の効果により、第1電位期間の電流が、従来の標準液に比べて大きくなるため、第2電位期間の電流との比を単純に比較することで、血液検体との判別

が容易になるが、様々な検体条件、環境温度など、先に述べた個人差により、高精度な判別指標とはなり得ない場合もありうる。そこで、本実施例においては、判別関数を用いた判別方法を使って判別を行った。

【0057】

図4に示したプロファイルの様に、6秒間の第1電位期間、6秒間の待機期間、3秒間の第2電位期間からなる、三つの連続した印加条件で計測された電流値より判別に用いるパラメータを算出し、パラメータを独立変数とする判別関数を定義し、前記判別関数に、前記判別パラメータの値を代入して得られる数値を判別指標とし、前記判別指標に基づいて、検体液種を判別する。

【0058】

具体的な、判別関数は、特許文献W001/40787A1の実施例と同様に作成した。血液検体を測定した際に得られた電流波形よりパラメーターを算出し、同様に標準液検体を測定した際に得られた電流波形よりパラメーターを算出して、2つのグループを最も良く分離する一次関数を判別関数とした。

【0059】

ここで用いた、判別用のパラメーター、及び判別関数は、標準液の組成毎に異なるが、とくに、第1電位期間の電流と、第2電位期間の電流の比を判別パラメーターの少なくとも一つとすることで、血液検体との判別が容易になる。

【0060】

表1、2は、本発明の標準液と、従来までの標準液について実際に判別をおこなった例を示したものである。測定を行った検体は、標準液を3濃度（40mg/dL、120mg/dL、350mg/dL）と、血液検体として6種類のグルコース濃度（40mg/dL、80mg/dL、120mg/dL、200mg/dL、350mg/dL、420mg/dL）それぞれについて、Hct濃度を3濃度（20%、45%、60%）ずつ調整した、計18検体である。各検体につき、作製時期の異なる2つのセンサロットを用いて、繰り返し10回ずつの評価を実施した。本発明の標準液を用いた場合の評価結果、及び従来の標準液を用いた場合の評価結果はそれぞれ（表1）、（表2）の通りである。

【0061】

【表 1】

本発明の標準液を用いた場合の判別結果

サンプル	判別結果	
	標準液	血液
本発明標準液	1 2 0 0	0
血液	0	3 6 0 0

【0062】

【表 2】

従来標準液を用いた場合の判別結果

サンプル	判別結果	
	標準液	血液
従来標準液	1 1 9 5	5
血液	1	3 5 9 9

【0063】

本発明の結果、従来までの標準液を用いた判別においては、若干の誤判別が発生していたのが、本発明の還元性物質を含んだ標準液においては、非常に高い精度の判別が可能となった。

【0064】

【発明の効果】

本発明によれば、ユーザにとって操作が容易であって、判別測定精度が良好なバイオセンサ専用の標準液、及びバイオセンサを用いた定量方法を容易に提供することできるようになる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

(a) 本発明に係るバイオセンサの分解斜視図

(b) 同バイオセンサの平面図

【図 2】

(a) 従来の標準液とヘマトクリット値の異なる血液とより得られる電流波形

図

(b) 従来の標準液と妨害物質を含む血液より得られる電流波形図

(c) 測定環境の異なる血液の波形図

【図 3】

本発明に係るバイオセンサシステムを示す斜視図

【図 4】

本発明の実施の形態に係る測定プロファイルを示す図

【図 5】

同実施の形態に係る還元性物質の酸化電流－電位曲線を示す図

【図 6】

同実施の形態に係る本発明の標準液と、従来の標準液と、標準的な血液試料を測定した波形図

【符号の説明】

- 1 絶縁性の基板
- 2 測定電極
- 3 対電極
- 4 検知電極
- 5 試薬層
- 6 スペース
- 7 切欠部
- 8 絶縁性の基板
- 9 空気孔
- 10 測定電極の測定装置との接合部
- 11 対電極の測定装置との接合部
- 12 検知電極の測定装置との接合部
- 13 略円弧状のスリット

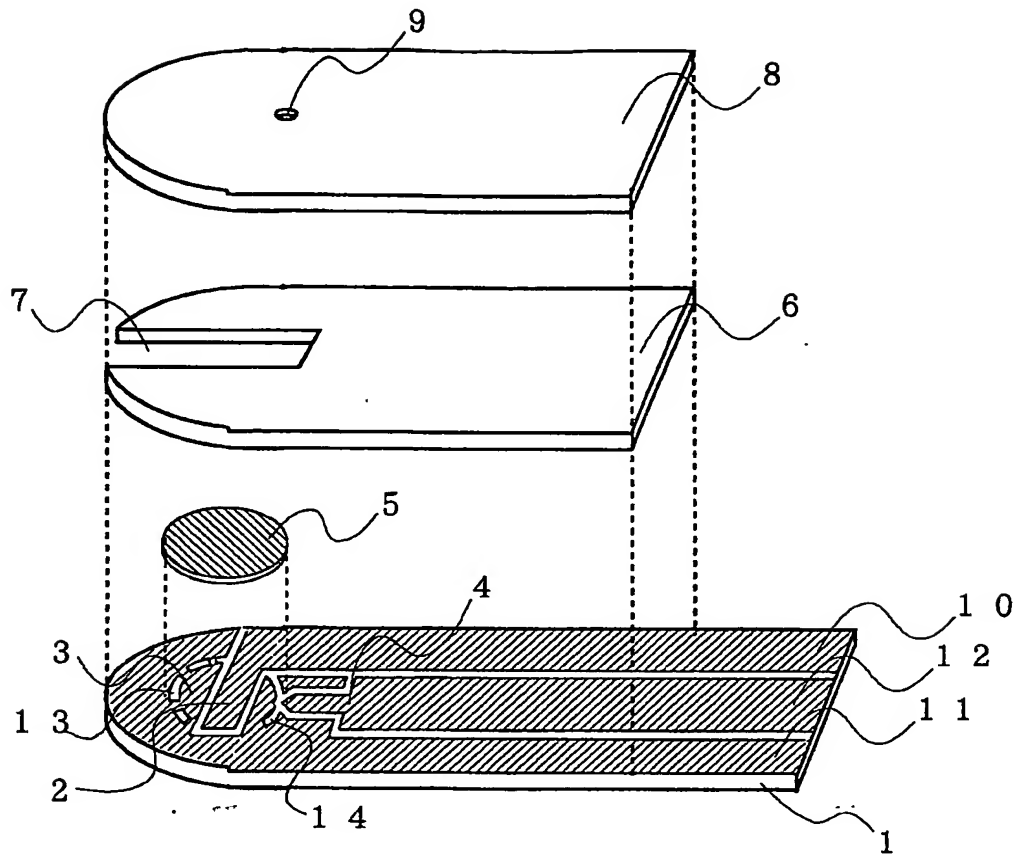
- 1 4 略円弧状のスリット
- 1 5 バオセンサ
- 1 5 a 検体供給路の入り口
- 1 6 測定装置
- 1 7 センサ挿入部
- 1 8 表示部

【書類名】

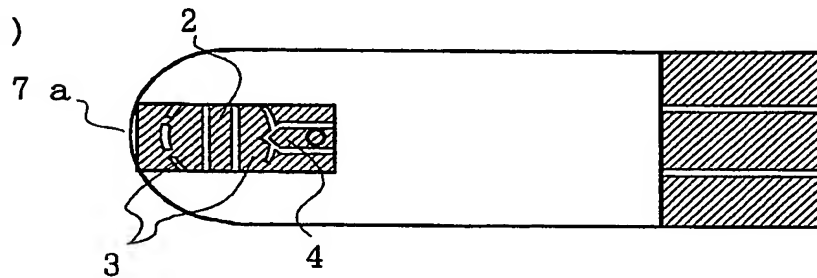
図面

【図1】

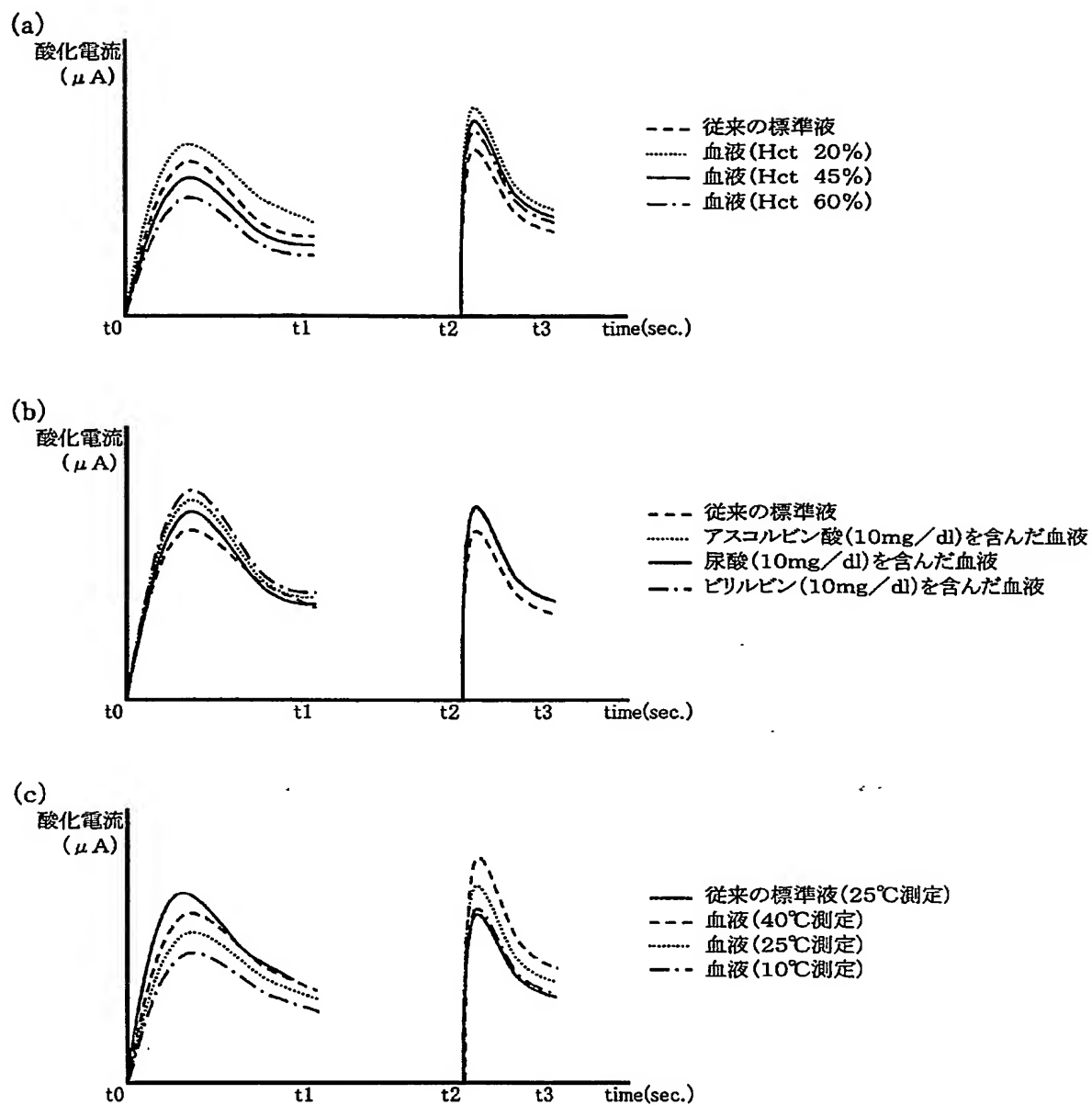
(a)



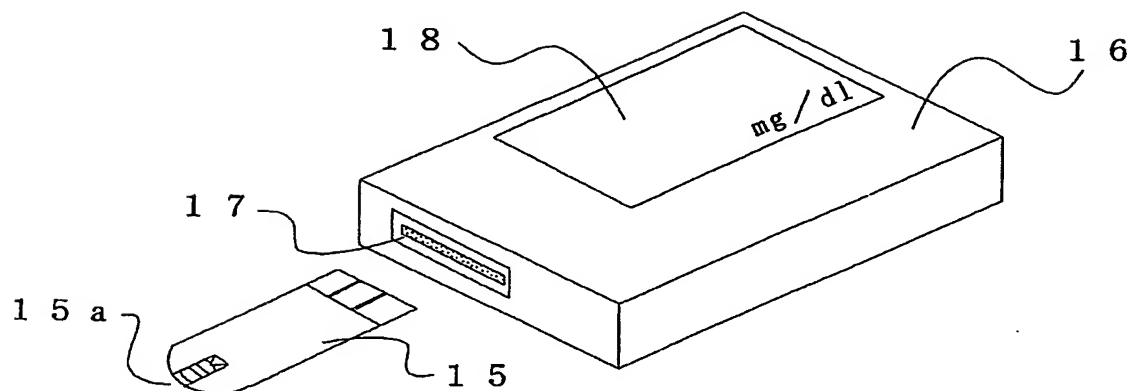
(b)



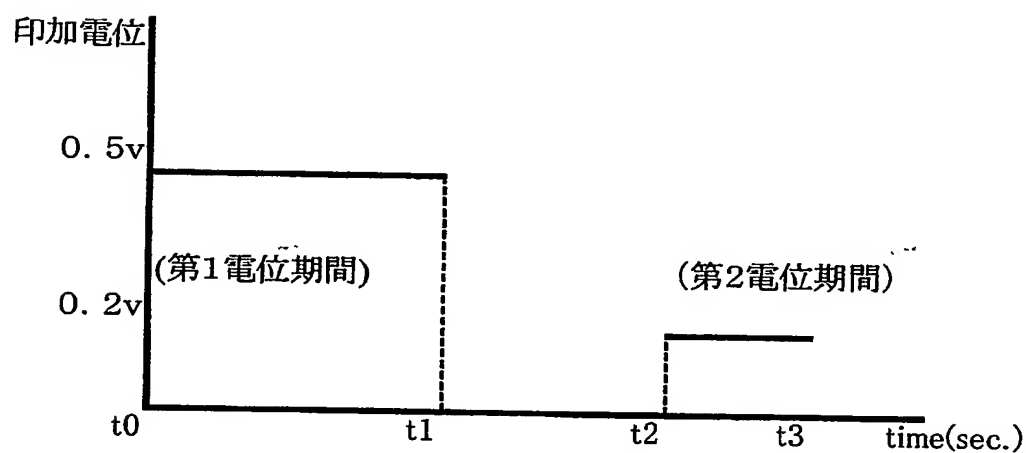
【図 2】



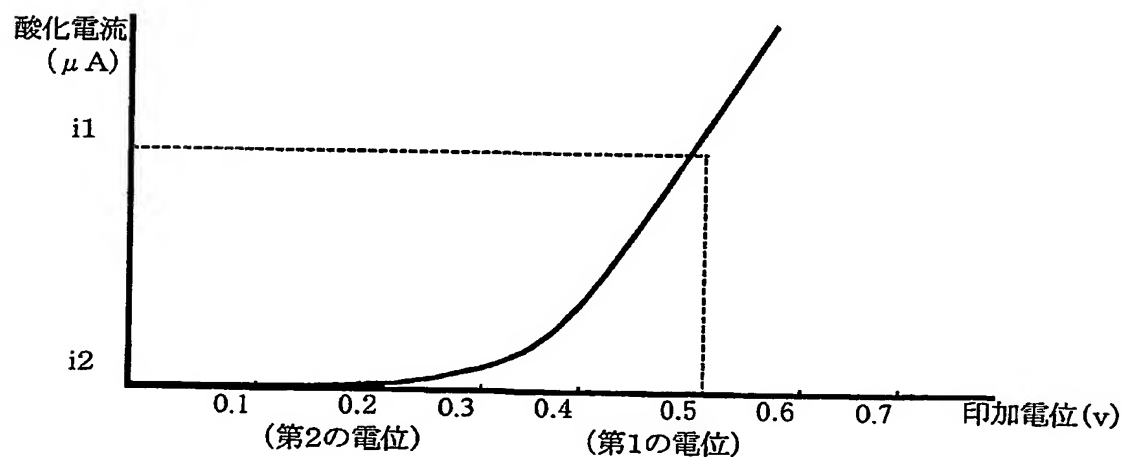
【図 3】



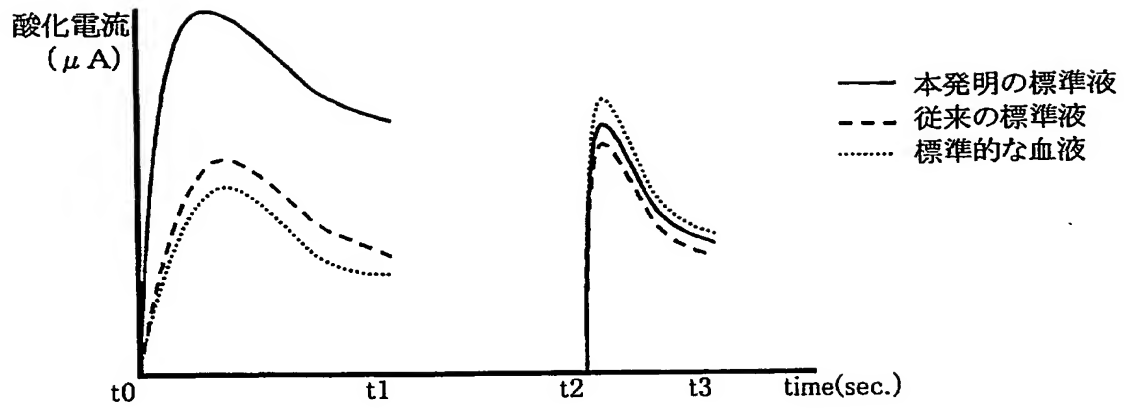
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 試料検体液種を自動で高精度に判別させるための定量方法、及び標準液を提供すること。

【解決手段】 絶縁基板に形成された対電極、測定電極を含む電極部、当該電極部に供給される試料液と反応する試薬層とを有するバイオセンサと、当該電極部の各電極に電圧を印加するための接続端子及び駆動電源とを有する測定装置とを用い、前記駆動電源によって、前記バイオセンサの電極部に電圧を印加し、測定することにより当該試料液中に含まれる基質を定量する場合において、前記測定装置の校正に用いる標準液の中に還元性物質を配合し、還元性物質から流れる酸化電流によって、 t_0 から t_1 間の電流波形に大きな変化を与え、試料液種の判別を容易にできるようにする。

【選択図】 図 6

特願 2 0 0 2 - 3 1 8 1 7 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 5 8 2 1]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地

氏 名

松下電器産業株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.